

基于网络药理学联合转录组学探讨糖止丸对2型糖尿病大鼠肝脏损伤的保护作用

李钦¹，刘轩²，梁建庆^{3,4}，梁永林³，朱向东⁵，李芳^{1*}

(1. 湖南医药学院, 湖南怀化 418000; 2. 甘肃卫生职业学院, 甘肃兰州 730030; 3. 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730000; 4. 甘肃中医药大学中医老年病学科, 甘肃兰州 730000; 5. 宁夏医科大学, 宁夏银川 750001)

摘要：目的 基于网络药理学联合转录组学实验探究糖止丸对2型糖尿病(T2DM)肝脏损伤的分子机制。方法 运用网络药理学预测糖止丸治疗T2DM的关键药物成分及潜在分子机制，并通过动物实验进行验证。采用高脂饲料喂养联合腹腔注射链脲佐菌素(STZ)制备T2DM大鼠模型，透射电镜观察肝组织病理改变，检测大鼠空腹血糖(FBG)、空腹血清胰岛素(FINS)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)及血清白介素1(IL-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、丙二醛(MDA)、糖化血红蛋白(GHb)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)水平和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性；运用转录测序分析对照组、模型组和糖止丸高剂量组的差异表达基因，KEGG富集分析获取糖止丸干预T2DM核心通路；RT-qPCR法检测肝脏组织缺氧诱导因子1 α (HIF-1 α)、血管生成素样蛋白2(Angpt2)、Bcl家族抗凋亡基因2(Bcl-2)mRNA表达。结果 网络药理学分析预测到糖止丸活性成分74种，核心成分为决明内酯、氧化小檗碱、胡萝卜苷，治疗T2DM的核心通路为缺氧诱导因子1(HIF-1)信号通路。药效学实验结果显示，糖止丸不同程度地修复了大鼠肝组织细胞线粒体肿胀，脂肪变性的组织损伤，降低了T2DM大鼠FBG、FINS、GHb、TC、TG、IL-1、TNF- α 、MDA水平和ALT、AST活性($P<0.05$, $P<0.01$)，升高了GSH-PX活性($P<0.01$)；转录组学实验结果显示，HIF-1信号通路在糖止丸干预T2DM中被激活，并调控差异基因HIF-1 α 、Angpt2和Bcl-2表达；RT-qPCR实验证实糖止丸可上调T2DM大鼠肝组织HIF-1 α 、Angpt2和Bcl-2 mRNA表达($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 糖止丸对T2DM大鼠肝脏损伤的保护作用可能与通过激活HIF-1信号通路进而上调HIF-1 α 、Angpt2和Bcl-2 mRNA表达有关。

关键词：糖止丸；2型糖尿病；肝脏损伤；网络药理学；转录组学；HIF-1信号通路

中图分类号：R285.5；R966

文献标志码：B

文章编号：1001-1528(2025)11-3810-08

doi：10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.043

饮食丰盛、运动缺乏、精神压力增大及人口老龄化等因素使2型糖尿病(type 2 diabetes, T2DM)在我国呈现高发状态。T2DM及其并发、伴发疾病引起的致残、致死率仅次于心脑血管疾病与恶性肿瘤^[1-4]，是我国重大慢性疾病防治的重点。目前主要通过长期口服西药降糖药物结合胰岛素注射的方法控制血糖，但不良反应诸多，寻求积极有效的T2DM防治策略具有重要意义。

肝脏的代谢损伤往往伴随着T2DM的发生而出现，并逐步发展至慢性肝炎、肝硬化甚至肝癌^[5-6]。仝小林院士以经典名方大黄黄连泻心汤与二陈汤为基础，加入具有显著降糖、调脂作用的茵陈、桑叶、知母等组成了糖止方。全方祛郁除热，理气祛湿，调脂降糖，多年来以汤剂应用于临床疗效显著，但水煎制剂量大味苦，携带不便，甘肃省

中医院将其制备成浓缩丸制剂——糖止丸，作为院内制剂在临床应用。前期药效学研究结果显示糖止丸可有效调控血糖、血脂，改善T2DM大鼠的胰岛细胞形态及胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)^[7]；急性毒性、最大耐受量以及亚急性毒性实验结果表明糖止丸安全性良好^[8]；组方中绿原酸、芍药苷、盐酸黄连碱、盐酸小檗碱、巴马汀、橙皮苷等质量标志物含量的测定结果进一步明确了糖止丸具有有效性与均一性^[9]。本研究将运用网络药理学-转录测序分析方法，探索糖止丸防治T2DM的潜在活性成分及保护肝组织功能损伤的核心作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠，5周龄，体质量180~220 g，购自斯贝福(北京)生物技术有限公司[实验动物

收稿日期：2025-03-16

基金项目：甘肃省自然科学基金项目(22JR5RA810)；宁夏自然科学基金重点项目(2023AAC02035)；甘肃省高等学校创新基金项目(2022A-249, 2025A-403)

作者简介：李钦(1979—)，男，博士，教授，从事中医药防治糖尿病的研究。Tel: 13919177627, E-mail: 534742782@qq.com

*通信作者：李芳(1982—)，女，博士，副教授，从事中药药理与毒理的研究。Tel: 13919959028, E-mail: 119232388@qq.com

生产许可证号 SCXK(京)2019-0010],分笼饲养于甘肃中医药大学实验动物中心 SPF 级屏障实验室,环境温度 21~25℃,相对湿度 45%~55%,12 h/12 h 明暗交替光照,颗粒饲料喂养,自由饮水。动物实验获得甘肃中医药大学伦理委员会批准(批准号 2022-022)。

1.2 药物 糖止丸(批号 2010002, 甘药制备字 Z20200441000)由甘肃省中医院药剂科提供,研磨成粉末,使用生理盐水充分混合溶解,配制成生药量 0.027、0.054、0.108 g/mL 的混悬液,放入 4℃冰箱保存备用。盐酸二甲双胍片(货号 ABZ4625, 中美上海施贵宝制药有限公司)研磨为细粉状,使用生理盐水配制成 0.18 g/mL 的混悬液。

1.3 试剂 总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)测定试剂盒(货号 A111-1-1、A110-1-1、A003-1、A005-1、C009-2-1、C009-2-1, 南京建成生物工程研究所); Hieff® QPCR SYBR Green Master Mix [货号 11202ES08, 翼圣生物科技(上海)股份有限公司]; 空腹血清胰岛素(fasting serum insulin, FINS)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, GHb)、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒(货号 2112R36、2203R29、2203R35、2203R43, 江苏菲亚生物科技有限公司)。

1.4 仪器 UV8100 型紫外分光光度计(北京莱伯泰科仪器股份有限公司); SpectraMax i3x 型酶标仪[美谷分子仪器(上海)公司]; PS-60AL 型超声仪(深圳市壹龙贸易有限公司); Mastercycler pro 型 Real-time PCR 仪(德国 Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 T2DM 模型大鼠制备 大鼠适应性饲养 1 周后,随机选取 12 只为对照组,给予普通饲料喂养;其余 60 只为造模组,给予高脂饲料喂养 4 周,以造模组大鼠体质量超过对照组大鼠体质量的 20% 为符合肥胖判定标准。肥胖模型大鼠禁食不禁水 12 h,按 30 mg/kg 体质量腹腔注射 1% 链脲佐菌素(streptozotocin, STZ),1 周后检测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG) 和随机血糖(random blood glucose, RBG),以 RBG ≥ 11.1 mmol/L, FBG ≥ 7.0 mmol/L 为 T2DM 成模标准^[10]。稳态模型胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment insulin resistance, HOMA-IR)为胰岛素抵抗成模评定指标,计算公式为 HOMA-IR = FINS \times FBG $\div 22.5$ 。

2.2 分组与给药 符合 T2DM 标准的 60 只大鼠随机分为模型组、二甲双胍组和糖止丸高、中、低剂量组。对照组灌胃给予生理盐水,喂食普通饲料;模型组灌胃给予生理盐水,喂食高脂饲料;糖止丸高、中、低剂量组分别按照人与动物体表面积等效剂量换算,灌胃给予 1.08、0.54、

0.27 g/kg 糖止丸混悬液,喂食高脂饲料;二甲双胍组灌胃给予 0.18 g/kg 盐酸二甲双胍混悬液,喂食高脂饲料;每天 1 次,连续给药 4 周。

2.3 样本采集与制备 末次给药后禁食不禁水 12 h,腹腔注射 3% 戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉,腹主动脉采血后室温静置 2 h,3 000 r/min 离心 15 min,分离血清,保存备用。脱颈椎处死大鼠,剪取完整肝脏组织,生理盐水冲洗,一部分置于电镜固定液固定;剩余部分液氮速冻后保存待检。

2.4 肝组织电镜观察 肝组织经 3% 戊二醛预固定,1% 四氧化锇再固定,丙酮逐级脱水,Epon812 包埋,半薄切片用甲苯胺蓝染色作光学定位,用钻石刀作超薄切片,醋酸铀和枸橼酸铅染色后,于 JEM-1400FLASH 透射电镜下观察肝组织超微结构。

2.5 生化指标检测 给药期间每周采用血糖仪及配套试纸测定大鼠 FBG;按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清 FINS、GHb、IL-1、TNF- α 水平;微板法测定血清 TG 水平和 AST、ALT 活性;氧化酶法测定血清 TC 水平;比色法检测血清 GSH-Px 活性;硫代巴比妥酸法检测血清 MDA 水平。

2.6 网络药理学分析

2.6.1 成分-靶点与疾病-靶点的获取 将“大黄、黄连、陈皮、茯苓、茵陈、桑叶、知母”等药物分别通过 TCMSP 数据库,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性(drug likeness, DL) ≥ 0.18 、血脑屏障(blood brain barrier) ≥ -0.18 为参数条件筛选药物成分^[11]。通过 PubChem 数据库获取成分 SMILES 式,经 SWISS 数据库以 Probability ≥ 0.1 为筛选条件获取成分潜在作用靶点;以“type 2 diabetes”为检索词,选择物种“Homo Sapiens”,通过 DisGeNET 数据库以 GDA Score ≥ 0.1 为检索条件获取与 T2DM 相关的疾病靶点。

2.6.2 成分-疾病共有靶点的获取及 KEGG 富集分析 通过 Venny 在线平台获得成分-靶点、疾病-靶点韦恩图,共有靶点通过 STRING 数据库输出 PPI 网络图;通过 Cytoscape 3.9.0 软件进行拓扑分析得出度(Degree)值,选取 Degree ≥ 2 倍中位数作为核心靶点的筛选条件获取核心靶点;构建“糖止丸-中药成分-核心靶点-糖尿病”可视化网络图,获取核心活性成分。运用 DAVID 数据库,对共有靶点进行 KEGG 富集分析获取潜在分子机制。

2.7 转录组学分析

2.7.1 转录组学测序 取冻存的对照组、模型组及糖止丸高剂量组肝组织,加入裂解液,运用 Oligo (dT) 磁珠富集带有 polyA 结构的 mRNA 并进行离子打断至长度约 300 bp。用 6 碱基随机引物和逆转录酶合成 cDNA 第一链第二链;PCR 扩增,文库片段质检、混合、稀释、碱变性,形成单链文库。运用 Illumina 测序平台进行双末端测序,生成原始数据。

2.7.2 测序数据分析 运用 Cutadapt 工具对原始数据去除 3' 端带接头的序列和平均质量分数低于 Q20 的 Reads 以进

行过滤；过滤后的 Reads 运用 HISAT2 软件比对到参考基因序列；根据比对结果计算每个基因的表达量；进行差异表达基因的统计分析和富集分析。

2.8 RT-qPCR 法验证差异基因表达 实时荧光定量 (real-time quantitative, RT-qPCR) 检测缺氧诱导因子 (HIF-1 α)、血管生成素样蛋白 2 (Angpt2)、B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 基因表达。取冻存肝组织 50 mg, 加入 Total RNA Extraction Reagent 1 mL 混匀裂解, 提取总 RNA; 将 RNA 反转录合成 cDNA, 反转录反应体系 20 μ L, 反转录条件为 25 $^{\circ}$ C 55 min, 55 $^{\circ}$ C 15 min, 85 $^{\circ}$ C 5 min; 随后进行 PCR 扩增反应, 反应体系 20 μ L, 反应程序为 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 1 个循环; 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 55~60 $^{\circ}$ C 退火 20 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 40 个循环; 熔解曲线阶段 1 个循环进行。引物序列见表 1, 以 β -actin 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 HIF-1 α 、Angpt2、Bcl-2 mRNA 相对表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

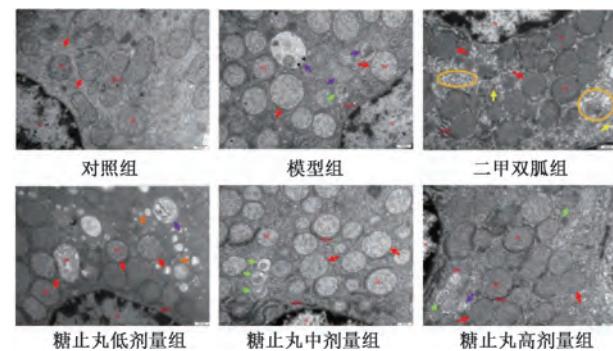
基因	片段长度/bp	引物序列
β -actin	260	正向 5'-ACCCGGAGTACAACCTTCT-3' 反向 5'-GTCAGGATGCCTCTCTTGCT-3'
HIF-1 α	262	正向 5'-AACATCAAGTCAGCAACG-3' 反向 5'-GTTCTTCTGGCTCATACC-3'
Angpt2	97	正向 5'-GCACCGCTAACCAACCAAAG-3' 反向 5'-AATGCATGCTGTCCCCTGTGA-3'
Bcl-2	85	正向 5'-ATGTGTGGAGAGCGCTCAA-3' 反向 5'-GATGCCGGTTAGGTACTCA-3'

2.9 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 数据符合正态分布并且通过方差齐性检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 糖止丸对 T2DM 大鼠肝组织结构的影响 如图 1 所示, 对照组肝细胞核呈圆形, 染色质分布均匀, 线粒体形态结构较正常, 基质电子密度均匀; 模型组肝细胞核呈不规则形, 线粒体呈圆形且发生肿胀, 峰变短、碎裂和数目减少, 基质颗粒减少; 二甲双胍组肝细胞核呈卵圆形, 染色质少量丢失, 线粒体形态结构正常, 核糖体少量丢失 (胞浆颜色变浅), 胞浆中可见糖原颗粒; 糖止丸低剂量组肝细胞核膜出现不规则变化, 线粒体肿胀, 基质溶解断裂, 质稀淡含有少量絮状物, 胞浆中可见自噬溶酶体和空泡; 糖止丸中剂量组细胞核呈圆形, 核仁明显, 线粒体呈圆形且含量丰富, 部分线粒体发生肿胀, 胞浆中可见自噬小体; 糖止丸高剂量组细胞核呈卵圆形, 染色质少量丢失, 线粒体广泛分布于胞质中且形态结构较正常, 胞浆中可见自噬小体和自噬溶酶体。

3.2 糖止丸对 T2DM 大鼠糖脂代谢水平的影响 如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠 FBG、FINS、GHb、TC、TG 水平和 HOMA-IR 均升高 ($P<0.01$); 给药 4 周后, 与模型组比较, 二甲双胍组和糖止丸各剂量组大鼠 FBG、FINS、GHb、TC、TG 水平和 HOMA-IR 均降低 ($P<0.05$,



注: N 为细胞核、Mi 为线粒体、RER 为粗面内质网、RBC 为红细胞。黄色圆圈区域显示核糖体少量丢失; 红色箭头指示线粒体发生肿胀; 紫色箭头指示核膜模糊; 绿色箭头指示自噬小体; 橙色箭头指示吞噬泡; 蓝色箭头指示初级溶酶体。

图 1 各组大鼠肝组织形态结构变化 ($\times 25000$)

$P<0.01$), 表明糖止丸可改善脂质代谢及胰岛素抵抗的效应。

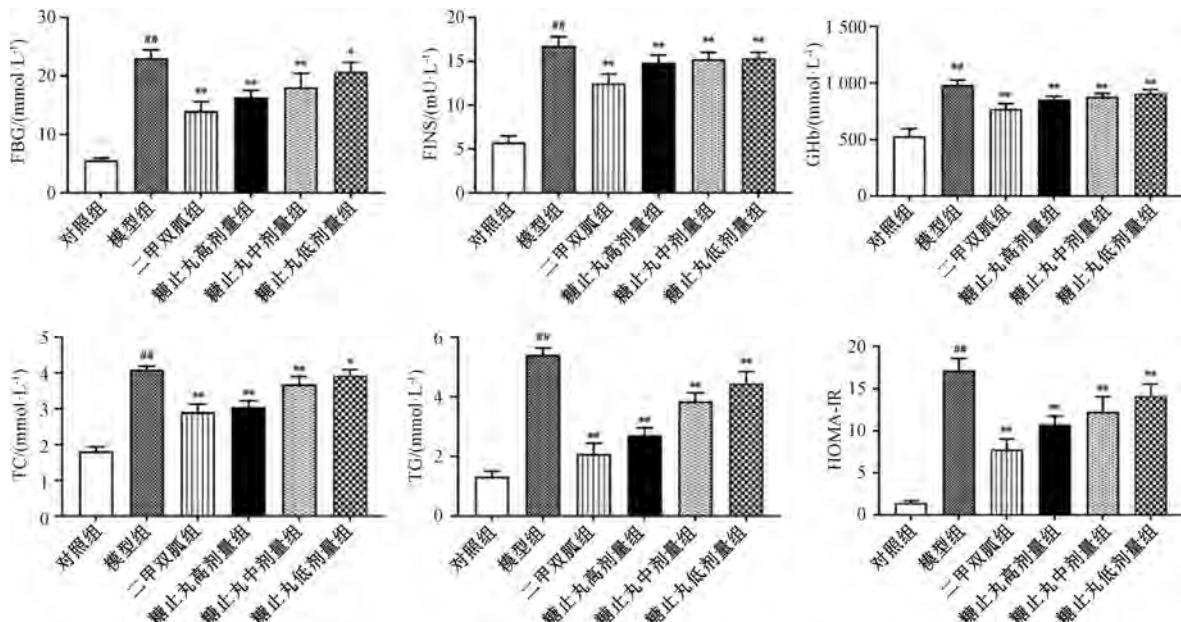
3.3 糖止丸对 T2DM 大鼠血清炎性因子水平的影响 如图 3 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清 IL-1、TNF- α 、MDA 水平升高 ($P<0.01$), GSH-Px 活力降低 ($P<0.01$), 提示肝组织出现炎症及氧化损伤; 给药 4 周后, 与模型组比较, 二甲双胍组和糖止丸高、中剂量组大鼠血清 IL-1、TNF- α 、MDA 水平降低 ($P<0.01$), GSH-Px 活力升高 ($P<0.01$), 糖止丸低剂量组 MDA 水平降低 ($P<0.01$), GSH-Px 活力升高 ($P<0.05$), IL-1、TNF- α 水平无明显变化 ($P>0.05$), 表明糖止丸可减轻 T2DM 大鼠慢性炎症氧化损伤。

3.4 糖止丸对 T2DM 大鼠肝功能指标的影响 如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清 ALT、AST 活力升高 ($P<0.01$); 给药 4 周后, 与模型组比较, 二甲双胍组和糖止丸高、中剂量组大鼠血清 ALT、AST 活力降低 ($P<0.01$), 糖止丸低剂量组大鼠血清 AST 活力降低 ($P<0.01$), ALT 活力无明显变化 ($P>0.05$)。

3.5 网络药理学

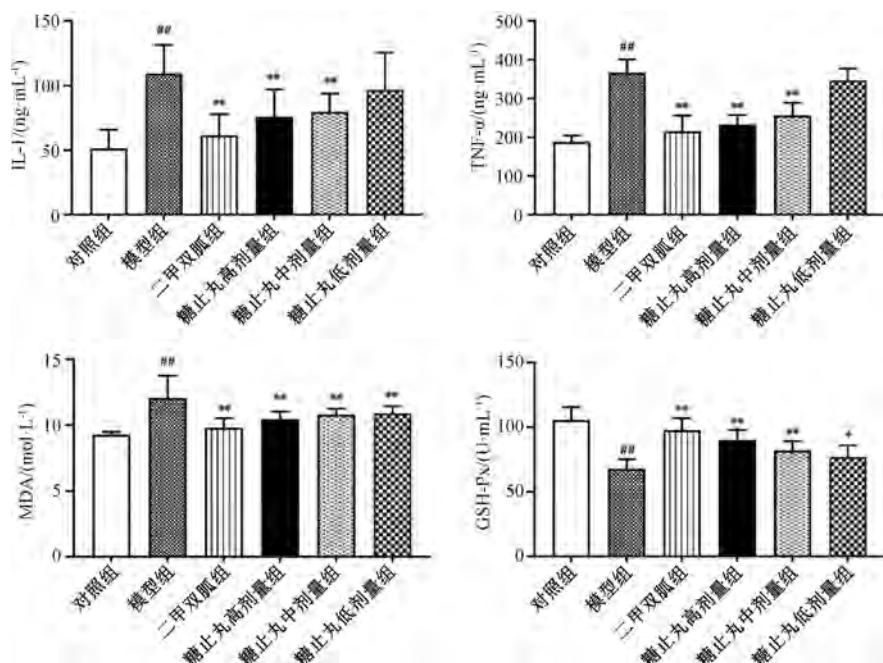
3.5.1 药物成分-靶点与疾病-靶点的获取 TCMSP 数据库共筛选出糖止丸复方组分药物成分 87 种, 整理去重后得到主要成分 74 种。通过 PubChem、SWISS 数据库, 以 Probability ≥ 0.1 条件筛选, 获取药物化学成分作用靶点 772 个。通过 DisGeNET 数据库, 以 GDA Score ≥ 0.1 条件检索, 获取 T2DM 相关疾病靶点 247 个。

3.5.2 药物-成分-疾病共有靶点获取及网络构建 药物成分-疾病-靶点通过 Venny 在线平台获得共有靶点 54 个, 见图 5。共有靶点 PPI 网络 (图 6) 拓扑分析及筛选得到核心靶点 13 个, 分别是 AKT1、STAT3、TNF、HIF1A、IL6、MTOR、PPARG、CASP3、MMP9、SIRT1、PTGS2、MMP2、PIK3CA; 以连接度排序, 预测 PTGS2 (连接度 8)、PPARG (连接度 7)、PIK3CA (连接度 6) 为糖止丸治疗 T2DM 核心潜在靶点。“中药-成分-核心靶点-糖尿病”可视化网络图见图 7, 分析结果以连接度排序, 预测到



注: 与对照组比较, ## $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图2 各组大鼠FBG、FINS、GHb、TC、TG水平及HOMA-IR值比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)



注: 与对照组比较, ## $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

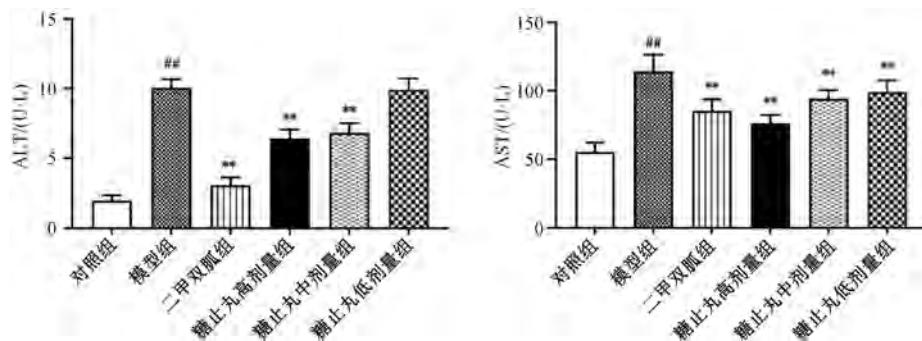
图3 各组大鼠血清IL-1、TNF-α、MDA水平及GSH-Px活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

totalactone (决明内酯, 连接度 17)、berlambine (氧化小檗碱, 连接度 13)、daucosterol (胡萝卜苷, 连接度 10) 为糖止丸治疗T2DM的主要活性成分。KEGG富集分析共获得69条通路, 见图8, 包括HIF-1、TNF、AMPK、FOXO、CAMP等信号通路, 其中尤以HIF-1信号通路显著表达。

3.6 转录组学

3.6.1 差异基因表达量 如图9所示, 与对照组比较, 模型组差异表达基因有1 392个, 其中上调656个, 下调736个; 与模型组比较, 糖止丸高剂量组差异表达基因有1 389

个, 其中上调907个, 下调482个。将模型组与对照组中上调的656个基因与糖止丸高剂量组与模型组中下调的482个基因取交集, 获得在模型组上调, 经糖止丸干预后下调表达的关键差异表达基因有Cyp2b1、Foxp2、Fras1、Gadd45b、Hear2、Igfbp1、Lepr、LOC292543。将模型组与对照组中下调的736个基因与糖止丸高剂量组与模型组中上调的907个基因取交集, 获得在模型组下调, 经糖止丸干预后上调的关键差异表达基因有Bcl-2、Hsd17b2、Ifit1、Loxl4、Cleav2、Slc34a2、Prss32、Gtse1、Angpt2、Spib、



注: 与对照组比较, ## $P < 0.01$; 与模型组比较, ** $P < 0.01$ 。

图4 各组大鼠血清 ALT、AST 活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

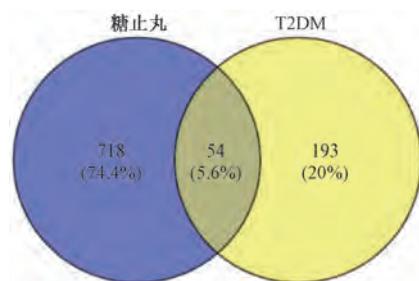


图5 糖止丸活性成分和T2DM靶点韦恩图

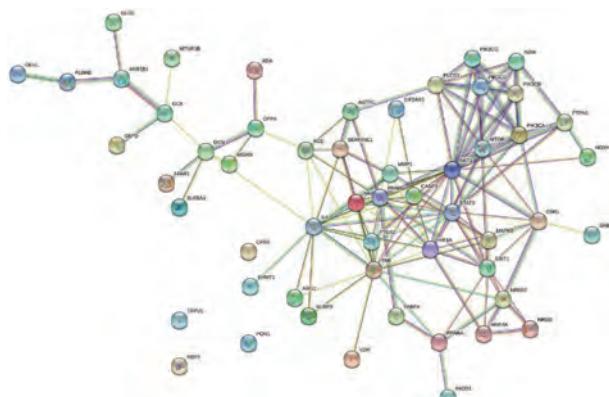


图6 共有靶点 PPI 网络图

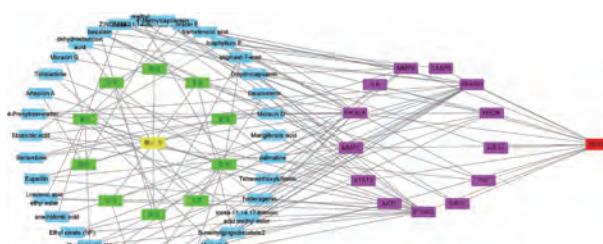


图7 “糖止丸-活性成分-靶点-糖尿病” 可视化网络图

Fmod。

3.6.2 差异表达基因KEGG通路富集分析 如图10所示,模型组与对照组的1392个差异表达基因主要富集于306条通路;糖止丸高剂量组与模型组的1389个差异表达基因主要富集于279条通路。在对照组与模型组及糖止丸高剂量组与模型组中,均显著富集于HIF-1信号通路,推测

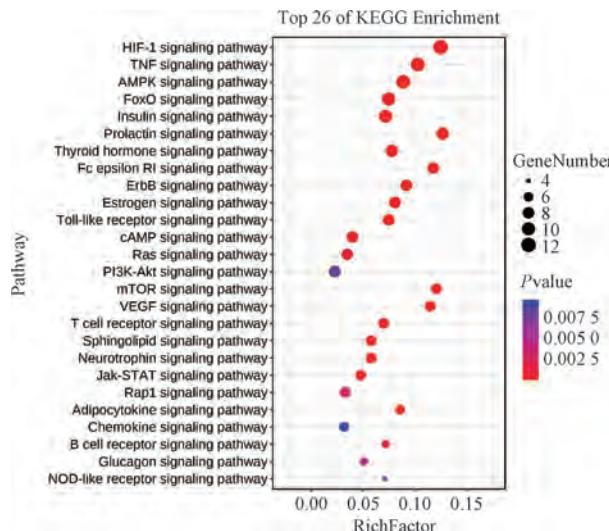


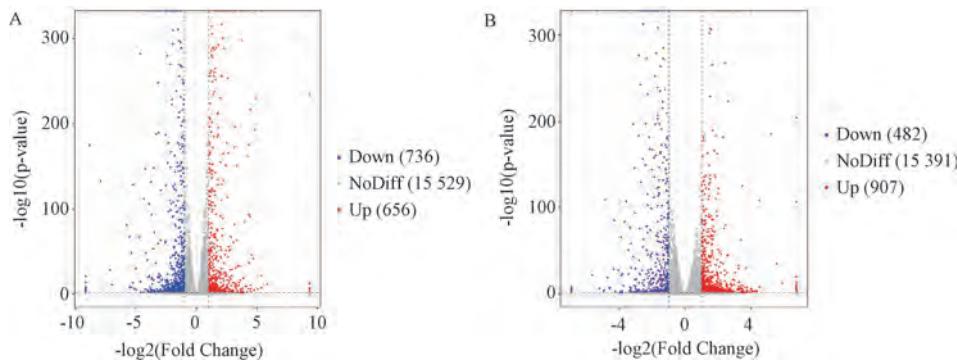
图8 KEGG富集分析结果气泡图 (前26条)

HIF-1信号通路在糖止丸干预T2DM中起到关键作用^[12]。结合HIF-1信号通路图(图11),选择HIF-1 α 、Angpt2、Bcl-2进行验证。

3.7 糖止丸对T2DM大鼠肝组织HIF-1 α 、Angpt2、Bcl-2 mRNA表达的影响 如图12所示,与对照组比较,模型组大鼠肝组织HIF-1 α 、Angpt2、Bcl-2 mRNA表达降低($P < 0.01$);给药4周后,与模型组比较,二甲双胍组和糖止丸高剂量组HIF-1 α 、Angpt2、Bcl-2 mRNA表达升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),糖止丸中、低剂量组HIF-1 α 、Angpt2、Bcl-2 mRNA表达无明显变化($P > 0.05$)。

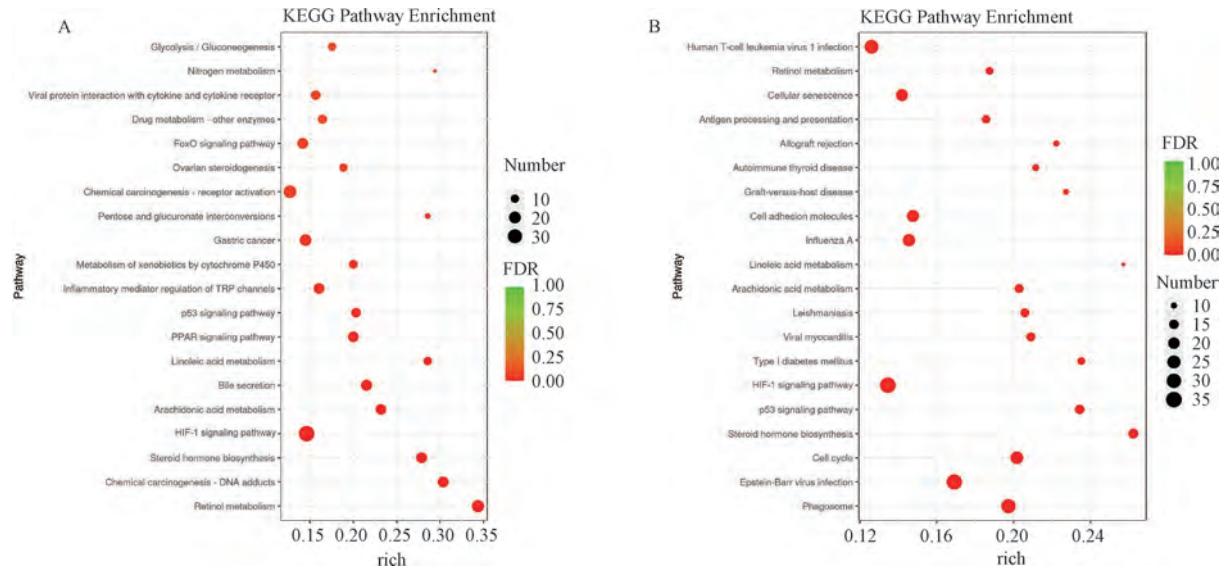
4 讨论

肝脏通过快速清除静脉血中的葡萄糖以调控血糖平衡,通过合成和转运脂质以调控脂质平衡。T2DM疾病状态下,持续性高血糖削弱红细胞携氧能力,降低肝脏组织氧扩散效率^[13],诱发肝细胞缺氧性功能障碍和结构损害^[14]。同时,由于胰岛素抑制肝细胞生成葡萄糖的生理作用被破坏,糖异生和糖原分解失控导致高血糖恶化,进而诱导炎症通路、促进脂质分解并加重IR^[15-16]。长期缺氧诱导肝窦内皮细胞死亡^[17],进一步破坏肝脏超微结构^[14],而肝脏代谢功能失调导致的葡萄糖/脂质稳态失衡,显著贡献于T2DM整体病理生理进展。



注: 红点表示上调基因, 蓝点表示下调基因, 灰点表示非显著差异表达基因。A 为对照组与模型组差异表达基因火山图, B 为糖止丸高剂量组与模型组差异表达基因火山图。

图 9 差异表达基因火山图



注: A 为对照组与模型组 KEGG 富集结果气泡图, B 为糖止丸高剂量组与模型组 KEGG 富集结果气泡图。

图 10 KEGG 信号通路富集结果

本研究通过网络药理学筛选获得了糖止丸防治 T2DM 的潜在活性成分 (决明内酯、氧化小檗碱、胡萝卜苷等)。决明内酯具有很好的抗氧化和清除氧自由基的作用, 可通过影响代谢通路发挥保肝作用^[18]。氧化小檗碱能促进胰岛素的分泌^[19], 促进脂肪细胞对葡萄糖的摄取^[20], 恢复非酒精性脂肪性肝病大鼠肝细胞脂质沉积, 减轻脂质代谢紊乱^[21], 还能通过减轻炎症反应改善 T2DM 大鼠肝脏损伤^[22]。胡萝卜苷可作为 α -葡萄糖苷酶抑制剂应用^[23], 具有潜在的降血糖作用^[24]。

仝小林院士提出, T2DM 的肝脏病例核心在于“郁”与“热”的病理状态^[25]。这种状态与高血糖状态诱导的缺氧密切相关, 其中 HIFs 是关键的介导分子^[26]。HIF-1 作为适应性应激调节枢纽^[27], 通过调控自噬、能量代谢、血管重塑等靶基因维持细胞稳态^[28]。有研究表明, 在 T2DM 病理环境下, 高血糖通过双重机制损害 HIF-1 α 功能, 一是直接降低 HIF-1 α 的蛋白稳定性^[29], 二是激活活性氧信号通路, 抑制 HIF-1 α 表达及转录^[30]。这种分子紊乱导致微循

环障碍, 诸“郁”化血“瘀”, 最终表现为肝组织缺氧的功能损害^[31]。持续性高血糖还削弱红细胞携氧能力, 并特异性抑制线粒体氧化磷酸化^[32], 迫使糖脂代谢代偿性紊乱以适应缺氧。网络药理学和转录组学分析共同得出, HIF-1 信号通路是糖止丸调控 T2DM 的核心信号通路。这可能与 HIF-1 α 参与糖代谢调控有关, HIF-1 α 通过增强胰岛素刺激的葡萄糖转运体活性, 改善缺氧微环境的 IR, 这对于 T2DM 肝脏损害具有保护作用^[33]; 另外, HIF-1 α 作为缺氧-炎症轴的关键节点, 可参与协调免疫细胞的代谢重编程与功能分化^[34]。

转录组学差异表达分析显示, HIF-1 信号通路激活后显著上调的 *Angpt2*、*Bcl-2* 基因通过协同机制介导肝脏保护机制。*Angpt2* 作为特异性内皮细胞促血管生成因子可促进血管重塑^[35], 抑制其在慢性炎症环境中的促凋亡作用诱导内皮细胞凋亡^[36-37]。由此推测, *Angpt2* 的降低对肝脏血管稳定性造成破坏, 引起血管内皮损伤, 糖止丸干预后可增加其表达。*Bcl-2* 通过诱导核内 GSH 积聚调控氧化还原稳

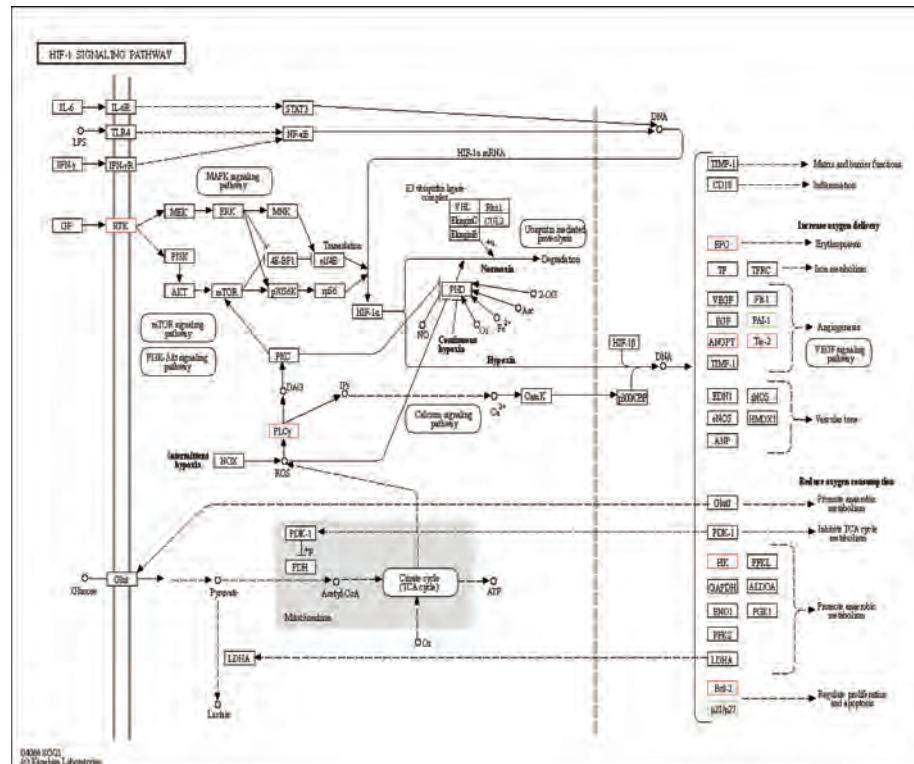
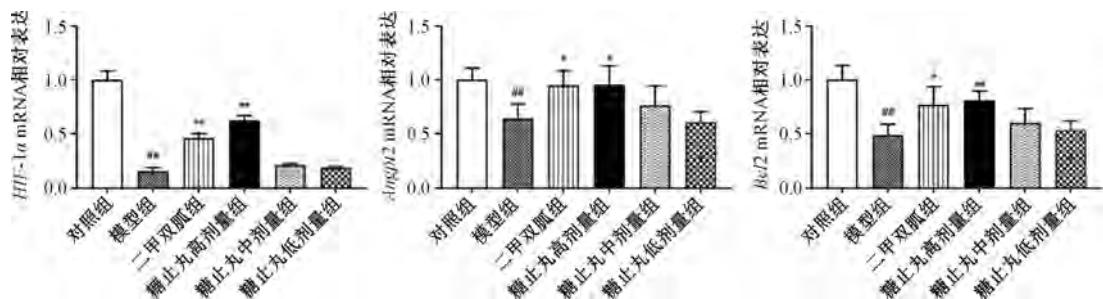


图 11 HIF-1 信号通路图



注：与对照组比较， $^{**}P<0.01$ ；与模型组比较， $^*P<0.05$ ， $^{**}P<0.01$

图 12 各组大鼠肝组织 *HIF-1 α* 、*Angpt2*、*Bcl-2* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

态，并抑制线粒体细胞色素 C 释放，从而阻断凋亡级联反应并延长肝细胞存活周期^[38]。

综上所述, HIF-1 信号通路在 T2DM 高糖低氧环境中的代偿性保护体系可能是通过调控 *Angpt2* 介导的血管功能修复与 *Bcl-2* 介导的抗凋亡协同效应, 显著减轻持续缺氧诱导的肝脏病理损伤。

参考文献.

- [1] Berbudi A, Rahmadika N, Tjahjadi A I, et al. Type 2 diabetes and its impact on the immune system [J]. *Curr Diabetes Rev*, 2020, 16(5): 442-449.
 - [2] Cole J B, Florez J C. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2020, 16(7): 377-390.
 - [3] 毕 艳. 中国糖尿病慢性并发症的流行病学研究现况 [J]. 中华糖尿病杂志, 2015, 7(8): 467-469.
 - [4] 叶景虹, 钱梦华, 姚 文. 2型糖尿病并发恶性肿瘤的流行

病学特征[J]. 中华糖尿病杂志, 2016, 8(5): 309-312.

- [5] Garg K, Brackett S, Hirsch I B, *et al.* NAFLD/NASH and diabetes[J]. *Diabetes Technol Ther*, 2020, 22(S1): S174-S186.

[6] Powell E E, Wong V W S, Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Lancet*, 2021, 397(10290): 2212-2224.

[7] 李钦, 梁永林, 史晓伟, 等. 基于转录组学探讨糖止丸调控 PI3K/Akt 改善 T2DM 大鼠肝脏胰岛素抵抗的效应机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(2): 99-109.

[8] 李喜香, 豆金彦, 邱连利, 等. 糖止丸的急性与亚急性毒性试验研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39 (13): 1698-1702.

[9] 李喜香, 王雪梅, 邱连利, 等. HPLC-PDA 法同时测定糖止丸中 6 种成分[J]. 中成药, 2023, 45(8): 2501-2504.

[10] 郝向波, 房辉, 徐睿哲, 等. 利拉鲁肽对糖尿病大鼠海马神经元的保护作用及可能机制[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2018, 34(6): 509-515.

[11] 赵欢, 开国银, 韩冰. 基于网络药理学和分子对接的丹

- 参饮抗结肠癌作用机制[J]. 中国药理学通报, 2022, 38(4): 598-605.
- [12] 郑全林, 徐向进. 缺氧诱导因子-1 α 与糖尿病慢性血管并发症[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(4): 671-672.
- [13] 曹海静, 朱 鸿, 施彩虹. HIF-1及相关信号通道在糖尿病视网膜病变中的研究进展[J]. 医学综述, 2011, 17(21): 3207-3210.
- [14] 姚向荣, 王海燕. 缺血缺氧对糖脂代谢及血液流变学影响的研究[J]. 空军医学杂志, 2014, 30(3): 169-171.
- [15] Ye J, Gao Z, Yin J, et al. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293(4): E1118-1128.
- [16] Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2009, 33(1): 54-66.
- [17] Lee S, Chen T T, Barber C L, et al. Autocrine VEGF signaling is required for vascular homeostasis[J]. *Cell*, 2007, 130(4): 691-703.
- [18] 许龙龙, 汤响林, 梁乾德, 等. 决明子水提物对大鼠尿液内源性代谢产物的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(11): 1164-1171.
- [19] Kong W J, Zhang H, Song D Q, et al. Berberine reduces insulin resistance through protein kinase C-dependent up-regulation of insulin receptor expression[J]. *Metabolism*, 2009, 58(1): 109-119.
- [20] Cok A, Plaisier C, Salie M J, et al. Berberine acutely activates the glucose transport activity of GLUT1[J]. *Biochimie*, 2011, 93(7): 1187-1192.
- [21] 韩 莉, 杨钦河, 张玉佩, 等. 小檗碱对高脂饮食诱导非酒精性脂肪性肝病大鼠肝细胞脂质沉积的干预作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(3): 314-319.
- [22] 蒋晓梅, 刘 翊, 朱延焱. 黄连总生物碱对溃疡性结肠炎模型大鼠肠黏膜损伤及p38-PPAR γ /NF- κ B通路的影响[J]. 中国药师, 2019, 22(12): 2188-2193.
- [23] Sheng Z, Dai H, Pan S, et al. Isolation and characterization of an α -glucosidase inhibitor from *Musa* spp. (Baxijiao) flowers[J]. *Molecules*, 2014, 19(7): 10563-10573.
- [24] Gao D, Zhang Y L, Xu P, et al. *In vitro* evaluation of dual agonists for PPAR γ / β from the flower of *Edgeworthia gardneri* (wall.) Meisn[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 162: 14-19.
- [25] 全小林, 毕桂芝, 甄 仲, 等. 2518例肥胖2型糖尿病中医证型分类研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2008, 3(1): 26-28.
- [26] Gunton J E. Hypoxia-inducible factors and diabetes[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(10): 5063-5073.
- [27] Semenza G L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine[J]. *Cell*, 2012, 148(3): 399-408.
- [28] Catrina S B, Zheng X. Hypoxia and hypoxia-inducible factors in diabetes and its complications[J]. *Diabetologia*, 2021, 64(4): 709-716.
- [29] Cerychova R, Pavlinkova G. HIF-1, metabolism, and diabetes in the embryonic and adult heart[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 460.
- [30] Kajiwara H, Luo Z, Belanger A J, et al. A hypoxic inducible factor-1 α hybrid enhances collateral development and reduces vascular leakage in diabetic rats[J]. *J Gene Med*, 2009, 11(5): 390-400.
- [31] 何文彬.“瘀血”与“血瘀”辨[J]. 北京中医药大学学报, 2000, 23(6): 14-15.
- [32] Trayhurn P, Alomar S Y. Oxygen deprivation and the cellular response to hypoxia in adipocytes—perspectives on white and brown adipose tissues in obesity[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2015, 6: 19.
- [33] 叶海主, 陈亚娟, 赵文英, 等. 肿瘤细胞和耐药肿瘤细胞中FoxO3/Keap1/Nrf2通路的表达差异[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2017, 22(8): 859-865.
- [34] Palazon A, Goldrath A W, Nizet V, et al. HIF transcription factors, inflammation, and immunity[J]. *Immunity*, 2014, 41(4): 518-528.
- [35] Zhang B, Pei C, Zhang Y, et al. High resting heart rate and high BMI predicted severe coronary atherosclerosis burden in patients with stable angina pectoris by SYNTAX score[J]. *Angiology*, 2018, 69(5): 380-386.
- [36] 张凤霞, 徐瑞权. 血管生成素2与抗中性粒细胞浆抗体相关性血管炎活动的关系[J]. 中国现代医生, 2017, 55(25): 15-18; 169.
- [37] 莫金兵, 裴影影, 史敦绘, 等. 银屑病关节炎患者的骨代谢水平及其临床意义[J]. 江苏医药, 2020, 46(3): 235-238.
- [38] D'orsi B, Mateyka J, Prehn J H M. Control of mitochondrial physiology and cell death by the Bcl-2 family proteins Bax and Bok[J]. *Neurochem Int*, 2017, 109: 162-170.